

Uji Antagonisme *Bacillus cereus* terhadap *Rhizoctonia solani* dan *Sclerotium rolfsii*

Antagonism Test of Bacillus cereus Towards Rhizoctonia solani and Sclerotium rolfsii

Nurul Hidayah dan Titiek Yulianti

Balai Penelitian Tanaman Pemanis dan Serat
Jln. Raya Karangploso, Kotak Pos 199, Malang

Email: nurul_hidayah2003@yahoo.com

Diterima: 24 April 2013

Disetujui: 19 Agustus 2014

ABSTRAK

Jamur *Rhizoctonia solani* dan *Sclerotium rolfsii* merupakan kelompok jamur steril (tidak menghasilkan spora) tetapi dapat menghasilkan sklerosia sebagai sumber inokulum primer, dan struktur istirahat jamur yang dapat bertahan selama beberapa tahun di dalam tanah saat kondisi lingkungan kurang menguntungkan. Penggunaan fungisida, fumigasi, dan solarisasi tanah telah digunakan untuk mengendalikan kedua jamur tersebut, namun hasil yang diperoleh masih beragam. Pengendalian hayati dengan menggunakan bakteri *Bacillus* sp. yang merupakan salah satu kelompok agens hayati patogen diketahui memberikan hasil yang baik pada beberapa tanaman. Penelitian yang bertujuan menguji potensi *B. cereus* dalam menghambat pertumbuhan jamur *R. solani* dan *S. rolfsii* secara *in vitro* dilaksanakan di Laboratorium Fitopatologi Balittas dengan menggunakan metode *dual culture* pada media *potato dextrose agar* (PDA). Miselia jamur *R. solani* dan *S. rolfsii* masing-masing berumur 5 hari diambil dengan menggunakan *cork borer* ukuran 0,5 cm ditanam pada media PDA berhadapan dengan *B. cereus* dengan jarak 3 cm. Penelitian disusun dalam rancangan acak lengkap dan diulang empat kali. Pengamatan dilakukan terhadap persentase penghambatan pertumbuhan jamur oleh *Bacillus* sp. dan laju pertumbuhan jamur. Hasil penelitian menunjukkan bahwa *Bacillus* sp. mampu menghambat pertumbuhan miselia *R. solani* dan *S. rolfsii* masing-masing sebesar 68,9% dan 33% pada hari ketiga setelah perlakuan. Keberadaan *B. cereus* dapat memperlambat laju pertumbuhan *R. solani* (15,5 mm/24 jam), dibandingkan perlakuan kontrol (tanpa *B. cereus*) sebesar 19,7 mm/24 jam. Hasil ini menunjukkan bahwa *B. cereus* dapat menghambat pertumbuhan *R. solani* dan berpotensi untuk dikembangkan sebagai agens hayati.

Kata kunci: *Bacillus* sp., pengendalian hayati, *Rhizoctonia solani*, *Sclerotium rolfsii*, rebah kecambah

ABSTRACT

Rhizoctonia solani and *Sclerotium rolfsii* (the causal agents of damping off disease on various hosts) are the group of sterile fungi that cannot produce spores. Nevertheless, they produce sclerotia as primary inocula and resting spores when facing unfavorable condition. Several control methods using chemical fungicides and solarization had been conducted, but the results were still inconsistent. In addition, the use of *Bacillus* sp. as a biological control agent for several plant diseases had provided successful results. Furthermore, the research aimed to evaluate the potency of *B. cereus* towards *R. solani* and *S. rolfsii* *in vitro* was carried out in the laboratory of phytopathology using dual culture method on PDA medium. Five days of *R. solani* and *S. rolfsii* miselia were plugged and inoculated on PDA medium toward *B. cereus*. The research was arranged by completely randomized design with four replicates. The percentage of fungal inhibition and fungal growth rate were observed. The result showed that *B. cereus* exhibited mycelial growth inhibition activity of *R. solani* and *S. rolfsii* by 68,9% and 33% three days after treatments, respectively. The result also indicated that *B. cereus* has a potential prospect to be developed as a biological control agent because the bacteria could suspend the growth rate of *R. solani*.

Keywords: *Bacillus* sp., biological control, damping off, *Rhizoctonia solani*, *Sclerotium rolfsii*

PENDAHULUAN

Jamur *Rhizoctonia solani* dan *Sclerotium rolfsii* merupakan kelompok jamur steril (tidak dapat menghasilkan spora) tetapi dapat menghasilkan sklerosia sebagai struktur berta-hannya baik di tanah maupun pada jaringan tanaman (Dijst 1988).

Sklerosia (yang dapat terbentuk di ta-naman maupun di tanah) merupakan sumber inokulum primer di lahan dan dapat bertahan selama beberapa tahun di tanah. Ketika kon-disi lingkungan mendukung bagi pertumbuh-annya maka sklerosia tersebut akan berke-cambah dan jika menemukan inang yang se-suai, hifa yang berasal dari perkecambahan sklerosia dapat menginfeksi tanaman inang yang ada. Tanaman yang dapat menjadi inang kedua jamur tersebut sangat banyak baik, dari kelompok tanaman hortikultura, seperti sayur-an dan tanaman hias; kelompok tanaman per-kebunan seperti kapas, tembakau, wijen, bu-nga matahari; maupun tanaman pangan se-perti padi, jagung, kedelai, kacang hijau, dan sebagainya (Gutierrez *et al.* 1997; Yulianti & Ibrahim 2000; Ceresini *et al.* 2002; Muis & Quimio 2006; Gurkanli & Ozkoc 2011).

Pada dasarnya jamur *R. solani* dan *S. rolfsii* ini memiliki kemampuan saprofitik (*saprophytic ability*) yang tinggi yakni ketika tidak ada inang yang sesuai, kedua jamur dapat me-manfaatkan bahan organik yang ada di sekitar-nya sebagai tempat tumbuhnya sehingga ke-dua jamur masih dapat bertahan di alam (Pa-pavizas 1970). Ketika sudah menemukan inang yang sesuai di lapangan, baik *R. solani* mau-pun *S. rolfsii* akan mulai menginfeksi jaringan tanaman inang tersebut dan jika kondisi ling-kungan mendukung bagi jamur tersebut maka terjadilah gejala penyakit pada tanaman. Salah satu penyakit yang disebabkan oleh *R. solani* maupun *S. rolfsii* adalah rebah kecambah yang banyak terjadi di pembibitan. Penyakit rebah kecambah dapat terjadi sebelum ta-naman muncul ke permukaan tanah (*pre-emergance damping off*) yang gejalanya di-ketahui dari biji membusuk sebelum tumbuh

maupun bibit sudah muncul ke permukaan tanah (*post-emergance damping off*) tetapi kemudian layu karena bagian pangkal batang-nya membusuk. Penyakit rebah kecambah da-pat berkembang baik pada kondisi lingkungan yang lembap (Yulianti & Ibrahim 2000). Selain menyebabkan penyakit rebah kecambah, *R. solani* juga dapat menyebabkan penyakit bu-suk akar (*root rot*) dengan kerugian yang di-timbulkan dapat mencapai 30–60% (Neher & Gallian 2011).

Pengendalian dengan berbagai metode seperti solarisasi tanah, penggunaan fungisida, dan fumigasi tanah telah digunakan untuk me-ngendalikan penyakit akibat *R. solani* dan *S. rolfsii*, namun hasil yang diperoleh masih be-ragam (Ristaino *et al.* 1991). Pengendalian hayati baik dengan memodifikasi kondisi ling-kungan supaya sesuai bagi mikroba yang ber-manfaat maupun dengan mengintroduksi lang-sung mikroba antagonis diketahui memberi-kan prospek yang baik karena selain lebih ra-mah lingkungan juga keberadaan mikroba di tanah yang berlangsung terus-menerus dapat mendukung keberlanjutan sistem budi daya tanaman (Baker & Cook 1974). Pengaruh dari aplikasi pengendalian hayati mungkin tidak se-saat tapi manfaatnya dapat dirasakan dalam jangka waktu yang lama.

Mikroba yang dapat dimanfaatkan seba-gai agens hayati dapat berupa bakteri, jamur, maupun nematoda. Bakteri maupun mikroba lain yang akan digunakan sebagai agens ha-yati tersebut harus memiliki kemampuan un-tuk menghambat pertumbuhan patogen yang menjadi target secara langsung, misalnya me-lalui mekanisme parasitasi, maupun dengan menghasilkan senyawa metabolit tertentu yang menghambat pertumbuhan patogen (Brunner *et al.* 2005). Beberapa jenis mikroba tanah yang banyak dimanfaatkan sebagai agens hayati jamur patogen tanaman di anta-ranya, kelompok jamur adalah *Trichoderma*, *Gliocladium*, jamur-jamur nonpatogenik; ke-lompok bakteri seperti *Bacillus*, *Pseudomonas*, dan *Serratia* (Yedidia *et al.* 1999; Montealegre *et al.* 2003; Kazempour 2004; Elkahoui *et al.*

2012), serta nematoda *Aphelenchus avenae* juga dimanfaatkan untuk mencegah penyakit rebah kecambah yang disebabkan oleh *R. solani* pada tanaman mentimun (Montealegre *et al.* 2003).

Bakteri dari genus *Bacillus* spp. seperti *B. subtilis* dan *B. cereus* telah banyak dimanfaatkan sebagai agens hayati berbagai macam jamur penyebab penyakit tanaman seperti *Alternaria citri* dan *Geotrichum candidum* pada jeruk (Singh & Deverall 1984), *Colletotrichum lagenarium* dan *Pythium aphanidermatum* pada mentimun dan tomat (Ongena *et al.* 2005), serta *Penicillium italicum*, *P. digitatum*, *Botrytis cinerea*, *A. citri*, dan *C. gloeosporioides* [*Glomerella cingulata*] (Arras 1993). Huang *et al.* (2005) mengemukakan bahwa *B. cereus* merupakan kelompok bakteri gram positif yang dapat membentuk endospora dan mudah diisolasi dari tanah dan tanaman. *B. cereus* dapat menghasilkan dua macam senyawa antibiotik yang dapat menghambat jamur *Phytophthora* penyebab rebah kecambah dan busuk akar pada kedelai (Emmert & Handelsman 2006). Bakteri endofit *B. cereus* strain 65 juga dapat menghasilkan senyawa chitobisidase yang efektif menekan jamur *R. solani* pada kapas (Pleban *et al.* 1997). *B. cereus* dengan strain yang berbeda juga telah digunakan untuk mengendalikan penyakit *gray mold* (bercak abu-abu) yang disebabkan oleh jamur *Botrytis cinerea* pada tanaman tomat dan memiliki prospek yang bagus untuk dikembangkan sebagai agens hayati patogen tersebut (Li *et al.* 2012).

Balai Penelitian Tanaman Pemanis dan Serat memiliki koleksi isolat *B. cereus* yang diisolasi dari pertanaman tembakau temanggung. Isolat *B. cereus* tersebut telah diuji kemampuannya sebagai agens hayati terhadap jamur *Phytophthora nicotianae* penyebab penyakit lanas tembakau dan bakteri *Ralstonia solanacearum* penyebab penyakit layu bakteri tembakau baik secara *in vitro* maupun *in vivo*, tetapi belum diuji terhadap penyebab penyakit pada tanaman lain seperti *R. solani* dan *S. rolfsii* pada kapas. Hasil pengujian menunjukkan

bahwa *B. cereus* berpotensi untuk dikembangkan sebagai agens hayati bagi kedua patogen tembakau tersebut (Yulianti, komunikasi pribadi 2010). Penelitian ini sebagai awal pengembangan *B. cereus* sebagai agens hayati terhadap patogen tanaman lainnya, seperti *R. solani* dan *S. rolfsii*. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk menguji potensi *B. cereus* dalam menghambat pertumbuhan jamur *R. solani* dan *S. rolfsii*.

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Fitopatologi Balai Penelitian Tanaman Pemanis dan Serat pada bulan Juni–September 2010. Isolat *B. cereus* yang digunakan dalam penelitian ini merupakan koleksi Laboratorium Fitopatologi Balittas yang diisolasi dari pertanaman tembakau temanggung. Biakan bakteri *B. cereus* diremajakan dan diperbanyak pada media *tryptic soy agar* (TSA).

Jamur *R. solani* dan *S. rolfsii* diisolasi dari bibit kapas yang menunjukkan gejala rebah kecambah. Pada pangkal batang bibit kapas yang sakit, dipotong pada bagian yang sakit dan sehat, disterilisasi dalam larutan kloroks selama 60 detik kemudian dibilas dengan air steril dan dikeringanginkan dalam kondisi aseptik. Potongan batang tersebut kemudian ditanam pada media *potato dextrose agar* (PDA) dan diinkubasi pada suhu kamar selama satu minggu. Jamur *R. solani* dan *S. rolfsii* yang tumbuh dimurnikan pada media PDA dan biakan murninya disimpan dalam media agar (PDA) miring untuk digunakan dalam pengujian ini.

Uji antagonisme *B. cereus* terhadap *R. solani* dan *S. rolfsii* dilakukan secara *in vitro* dalam cawan petri ($\varnothing = 9$ cm). Biakan murni *B. cereus* umur 48 jam diambil menggunakan jarum oose kemudian diletakkan di tengah petri. Selanjutnya miselia jamur *R. solani* atau *S. rolfsii* berumur 5 hari diambil dengan menggunakan *cork borer* ukuran $\pm 0,5$ cm dan ditumbuhkan pada media PDA di samping koloni

B. cereus sebanyak empat titik per petri dengan jarak masing-masing 3 cm.

Pengamatan dilakukan terhadap pertumbuhan miselia *R. solani* atau *S. rolfii* sampai dengan miselia memenuhi cawan petri dengan cara mengukur diameter miselia dan selanjutnya dihitung persentase daya hambat *B. cereus* terhadap *R. solani* atau *S. rolfii* menurut rumus Montealegre *et al.* (2003):

Daya hambat (%) = $(1 - (\text{pertumbuhan jamur} / \text{pertumbuhan kontrol})) \times 100\%$

Laju pertumbuhan jamur *R. solani* dan *S. rolfii* dihitung berdasarkan pertambahan diameter miselium jamur setiap hari sejak diinokulasi sampai dengan tiga hari setelah inokulasi *B. cereus* (Octriana 2011).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada 72 jam setelah inokulasi *B. cereus*, pertumbuhan miselia *R. solani* dan *S. rolfii* telah memenuhi cawan petri dengan laju pertumbuhan *R. solani* relatif lebih lambat dibanding *S. rolfii*. Laju pertumbuhan *R. solani* dengan adanya *B. cereus* sebesar 15,5 mm/24 jam mengalami pelambatan, sedangkan laju pertumbuhan *S. rolfii* dengan adanya *B. cereus* tidak terpengaruh (Tabel 1).

Tabel 1. Laju pertumbuhan jamur *R. solani* dan *S. rolfii* yang diperlakukan dengan *B. cereus*

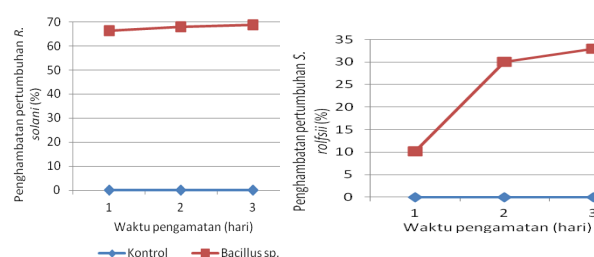
Perlakuan	Laju pertumbuhan (mm/24 jam)	Perlakuan	Laju pertumbuhan (mm/24 jam)
Kontrol (<i>R. solani</i>)	19,7	Kontrol (<i>S. rolfii</i>)	16,7
<i>R. solani</i> + <i>B. cereus</i>	15,5	<i>S. rolfii</i> + <i>B. cereus</i>	16,7

Hasil uji *in vitro* menunjukkan bahwa aplikasi *B. cereus* mampu memperlambat laju pertumbuhan *R. solani*, tetapi hal tersebut tidak terjadi pada *S. rolfii* (Tabel 1). Hal ini mengindikasikan bahwa perlakuan *B. cereus* memungkinkan untuk memperlambat atau menunda waktu munculnya gejala pada tanaman. Chamzurni *et al.* (2011) mengemukakan bah-

wa aplikasi jamur *Trichoderma virens* dengan dosis tinggi dapat memperlambat masa inkubasi terjadinya penyakit layu akibat *S. rolfii* pada tanaman kedelai serta memperkecil terjadinya lesion pada batang kedelai.

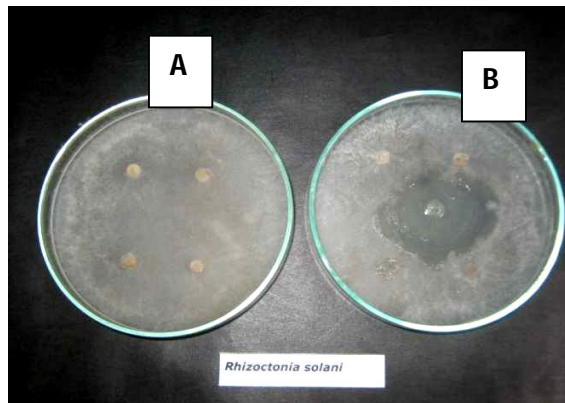
Selain menunda masa inkubasi, lambatnya laju pertumbuhan *R. solani* yang diperlakukan dengan *B. cereus* dibandingkan dengan kontrol menunjukkan bahwa *B. cereus* berpotensi juga sebagai *growth inhibitor* (penghambat pertumbuhan). Vespermann *et al.* (2007) mengemukakan bahwa kelompok bakteri antagonis terhadap patogen tanaman mampu menghasilkan senyawa yang mudah menguap (*volatile compound*) dan berfungsi sebagai antibiotik yang dapat menghambat pertumbuhan jamur patogen, tetapi berperan dalam meningkatkan pertumbuhan tanaman atau yang biasa disebut *plant growth promoting rhizobacteria* (PGPR). Makovitzki *et al.* (2007) juga menyatakan bahwa mikroba yang berpotensi sebagai agens hayati ada yang mampu menghasilkan senyawa kelompok lipopeptida yang berpotensi sebagai antifungi dan antibakteri terhadap patogen tanaman.

Selain memperlambat laju pertumbuhan, aplikasi *B. cereus* juga mampu menghambat pertumbuhan *R. solani* hampir mencapai 70% dan *S. rolfii* di bawah 35% (Gambar 1).

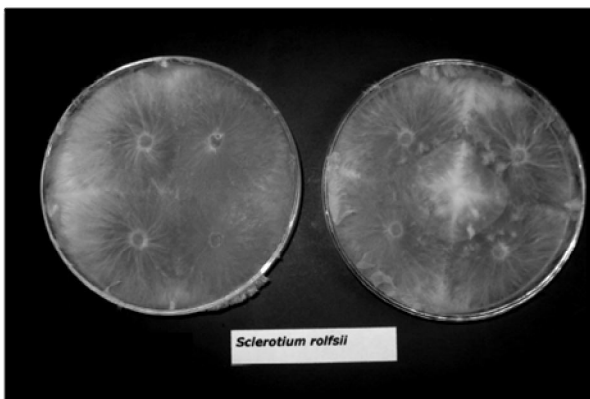


Gambar 1. Persentase penghambatan pertumbuhan *R. solani* dan *S. rolfii* oleh bakteri *B. cereus*

Kemampuan *B. cereus* dalam menghambat pertumbuhan *R. solani* dan *S. rolfii* pada media agar ditandai dengan terbentuknya zona bening di sekitar koloni *B. cereus*, sementara itu pada perlakuan kontrol (yang tidak diperlakukan dengan *B. cereus*) zona bening itu tidak terbentuk (Gambar 2 dan 3).



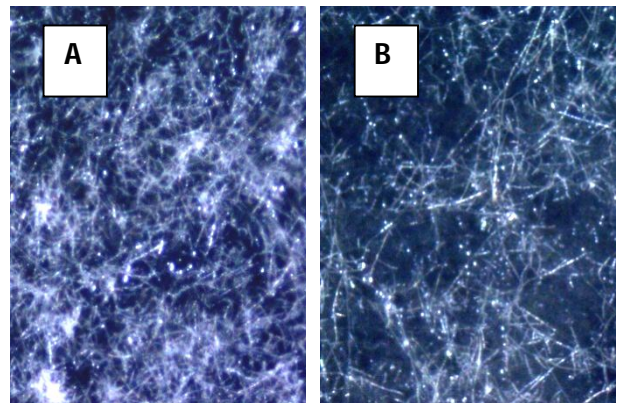
Gambar 2. Terjadinya penghambatan pertumbuhan *R. solani* pada media yang diperlakukan dengan *B. cereus* ditandai dengan terbentuknya zona bening, A. kontrol, B. *R. solani* diperlakukan dengan *B. cereus*



Gambar 3. Pertumbuhan *S. rolfsii* pada media agar, A. kontrol, B. *S. rolfsii* diperlakukan dengan *B. cereus*

Hasil pengamatan mikroskopis menunjukkan bahwa pertumbuhan hifa *R. solani* yang diperlakukan dengan *B. cereus* lebih tipis dibandingkan dengan kontrol (Gambar 4). Hal ini juga menunjukkan bahwa *B. cereus* dapat menghambat atau memperlambat pertumbuhan hifa *R. solani*.

Penghambatan pertumbuhan *R. solani* sebesar 68,9% oleh *B. cereus* menunjukkan bahwa isolat *B. cereus* tersebut mampu berperan sebagai agens pengendali hayati. Terbentuknya zona bening sebagai zona hambat pertumbuhan *R. solani* pada media PDA yang diinokulasi dengan *B. cereus* menunjukkan bahwa *B. cereus* dapat menghasilkan senyawa me-



Gambar 4. Pertumbuhan hifa *R. solani* lebih tebal pada perlakuan kontrol (A) dan lebih tipis pada perlakuan *B. cereus* (B)

tabolit tertentu yang dapat menghambat pertumbuhan *R. solani*. Hasil penelitian Huang *et al.* (2005) mengemukakan bahwa terbentuknya zona bening di sekitar sel bakteri mengindikasikan bahwa *B. cereus* dapat menghasilkan senyawa antifungi tertentu. Li *et al.* (2012) menambahkan bahwa *B. cereus* dapat mengubah morfologi hifa serta menghambat pembentukan dan perkecambahan spora *B. cinerea*.

Huang *et al.* (2005) mengemukakan bahwa bakteri *B. cereus* 28-9 dapat menghasilkan dua senyawa kitinase (ChiCW dan ChiCH) yang dapat menghambat perkecambahan konidia *B. elliptica* penyebab penyakit hawar daun pada bunga lili. Lebih lanjut Huang *et al.* (2005) juga menambahkan bahwa uji *in vivo* pada daun lili menunjukkan bahwa mekanisme antagonisme yang terjadi tidak hanya ditunjukkan oleh keberadaan kitinase tetapi juga melibatkan terjadinya induksi ketahanan tanaman, terbentuknya senyawa metabolit antifungi, atau kompetisi di sekitar permukaan daun. Pada penelitian lain dengan menggunakan *B. cereus* strain 65 yang diaplikasikan ke tanah menunjukkan bahwa *B. cereus* dapat menekan kejadian penyakit busuk akar yang disebabkan oleh *R. solani* hingga 50% (Pleban *et al.* 1997). Terjadinya penekanan kejadian penyakit tersebut berhubungan erat dengan keberadaan enzim kitinase yang dihasilkan oleh *B. cereus* (Pleban *et al.* 1997). Emmert & Handelsman (2006) menyatakan bahwa bakteri *B. cereus* UW85 dapat mempro-

duksi dua senyawa antibiotik yaitu zwittermicin A dan kanosamine, kedua antibiotik tersebut berperan dalam mengendalikan penyakit rebah kecambah (*damping off*) pada tanaman alfalfa.

Kelompok bakteri lain seperti *B. subtilis* juga dapat menghasilkan senyawa antifungi seperti subtilin, bacitracin, bacilli, dan bacillomycin yang berperan dalam menghambat pertumbuhan jamur patogen (Montealegre *et al.*, 2003). Senyawa antifungi lainnya yang dapat dihasilkan oleh *Bacillus* di antaranya adalah inturin A, surfactin, dan bacisubin (Liu *et al.* 2006; Seema & Devaki 2012). Senyawa bacisubin yang dihasilkan oleh *B. subtilis* strain B-916 mampu menghambat pertumbuhan miselia *R. solani*, *Magnaporthe griseae*, *Sclerotinia sclerotiorum*, *Alternaria oleracea*, *A. brassicae*, dan *B. cinerea*, bahkan nilai *inhibitory concentration* 50 (IC₅₀) *Bacillus* terhadap *A. brassicae*, *A. oleracea*, *R. solani*, dan *B. cinerea* juga sangat rendah, yakni masing-masing 0,055; 0,087; 4,01; dan 2,74 mM, ini menunjukkan bahwa dengan konsentrasi yang rendah *Bacillus* masih mampu menghambat pertumbuhan miselia jamur sebesar 50% pada media agar (Liu *et al.* 2006). Hasil penelitian yang dilakukan oleh Seema & Devaki (2012) juga menunjukkan bahwa *B. subtilis* mampu menghambat pertumbuhan *R. solani* sebesar 50% dan setelah lima hari terjadi perubahan warna pada media yang digunakan dalam uji antagonis antara *B. subtilis* dan *R. solani*.

Selain senyawa antifungi, *Bacillus* juga dapat menghasilkan senyawa yang bersifat bakteriostatik yakni senyawa yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri (Arwiyanto *et al.* 2007). Selain sebagai agens hayati, beberapa species *Bacillus* juga dapat berperan sebagai *plant growth promoting rhizobacteria* (PGPR) yang di samping berfungsi sebagai pengendali patogen juga dapat menstimulasi pertumbuhan tanaman dan meningkatkan ketahanan tanaman terhadap serangan patogen. Penggunaan *Bacillus* sp. baik sebagai agens hayati maupun PGPR telah banyak digunakan untuk mengendalikan patogen seperti *Fusarium* sp., *Botrytis cinerea*, *Pythium* sp., *Colletotrichum acu-*

tatum, *C. gloeosporioides*, *F. graminearum*, *Meloidogyne incognita*, dan *R. solanacearum* (Kim *et al.* 2003; Domenech *et al.* 2006; Bustamam 2006; Nourozian *et al.* 2006; Arwiyanto *et al.* 2007; Zivkovic *et al.* 2010). Untuk aplikasi di lapangan, penambahan agens hayati seperti *Bacillus* sp., *Pseudomonas fluorescens*, *Trichoderma* sp., *Penicillium digitatum*, dan *Gliocladium virens* pada pupuk kandang dapat menekan kejadian penyakit layu bakteri pada tanaman jahe dan meningkatkan pertumbuhan tanaman (Bustamam 2006).

KESIMPULAN

Bacillus cereus koleksi laboratorium Fitopatologi Balittas dapat menghambat pertumbuhan jamur *R. solani* dan *S. rolfii* masing-masing sebesar 68,9% dan 33% serta memperlambat laju pertumbuhan *R. solani* di media PDA. Hasil ini mengindikasikan bahwa *B. cereus* tersebut berpotensi untuk dikembangkan sebagai agens hayati patogen tanaman. Ke depan perlu dilakukan penelitian mengenai media untuk perbanyakan misal bakteri serta kondisi lingkungan termasuk suhu dan kelembapan yang sesuai untuk pertumbuhannya.

UCAPAN TERIMA KASIH

Kami mengucapkan terima kasih kepada semua pihak yang telah membantu jalannya penelitian ini juga kepada Prof. Dr. Nurindah yang telah memberikan banyak masukan pada tulisan ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Arras, G 1993, Inhibition of postharvest fungal pathogen by *Bacillus subtilis* strains isolated from citrus fruit [Abstrak], *Advance in Horticultural Science* 7(3):123–127.
- Arwiyanto, T, Asfanudin, R, Wibowo, A, Martoredjo, T & Dalmadiyo, G 2007, Penggunaan *Bacillus* isolat lokal untuk menekan penyakit

- lincat tembakau temanggung, *Berk. Penel. Hayati* 13:79–84.
- Baker, KF & Cook, RJ 1974, *Biological control of plant pathogens*, WH Freeman and Company, San Fransisco.
- Brunner, K, Zeilinger, S, Ciliento, R, Woo, SL, Lorito, M, Kubicek, CP & Mach, RL 2005, Improvement of the fungal biocontrol agent *Trichoderma atroviride* to enhance both antagonism and induction of plant systemic disease resistance, *Appl. Environ. Microbiol* 71 (7):3959–3965.
- Bustamam, H 2006, Seleksi mikroba rizosfer antagonis terhadap bakteri *Ralstonia solanacearum* penyebab penyakit layu bakteri pada tanaman jahe di lahan tertindas, *Jurnal Ilmu-Ilmu Pertanian Indonesia* 8(1):12–18.
- Ceresini, PC, Shew, HD, Vilgalys, RJ, Rosewich, UL & Cubeta, MA 2002, Genetic structure of population of *Rhizoctonia solani* AG-3 on potato in Eastern North Carolina, *Mycologia* 94(3): 450–460.
- Chamzurni, T, Sriwati, R & Selian, RD 2011, Efektivitas dosis dan waktu aplikasi *Trichoderma virens* terhadap serangan *Sclerotium rolfsii* pada kedelai, *J. Floratek* 6:62–73.
- Dijst, G 1988, Formation of sclerotia by *Rhizoctonia solani* on artificial media and potato tuber, *Neth. J. Pl. Path.* 94:233–242.
- Domenech, J, Reddy, MS, Kloepper, JW, Ramos, B & Gutierrez-Manero, J 2006, Combined application of the biological product LS213 with *Bacillus*, *Pseudomonas* or *Chryseobacterium* for growth promotion and biological control of soil-borne diseases in pepper and tomato, *BioControl* 51:245–258.
- Elkahoui, S, Djebali, N, Tabbene, O, Hadjbrahim, A, Mnasri, B, Mhamdi, R, Shaaban, M & Limmam, F 2012, Evaluation of antifungal activity from *Bacillus* strains against *Rhizoctonia solani*, *African Journal of Biotechnology* 11(8): 4196–4201.
- Emmert, EAB & Handelsman, Jo 2006, Biocontrol of plant disease: a (Gram-) positive perspective, *FEMS Microbiology Letters* 171:1–9.
- Gurkanli, C & Ozkoc, I 2011, First report of BNP *Rhizoctonia* from tobacco (*Nicotiana tabacum*) in Samsun, Turkey, *Pak. J. Bot.* 43(1):51–57.
- Gutierrez, WA, Shew, H & Melton, TA 1997, Sources of inoculum and management for *Rhizoctonia solani* damping-off on tobacco transplants under greenhouse conditions, *Plant Disease* 81:604–606.
- Huang, C, Wang, T, Chung, S & Chen, C 2005, Identification of an antifungal chitinase from a potential biocontrol agent, *Bacillus cereus* 28–9, *Journal of Biochemistry and Molecular Biology* 38(1):82–88.
- Kazempour, MN 2004, Biological control of *Rhizoctonia solani*, the causal agent of rice sheath blight by antagonistic bacteria in greenhouse and field conditions, *Plant Pathology Journal* 3(2):88–96.
- Kim, H, Park, J, Choi, S, Choi, K, Lee, GP, Ban, SJ, Lee, CH & Kim, CS 2003, Isolation and characterization of *Bacillus* strains for biological control, *The Journal of Microbiology* 41(3): 196–201.
- Li, F, Ma, H, Liu, J, Zhang, C 2012, Antagonistic effects of *Bacillus cereus* strain B-02 on morphology, ultrastructure, and cytophysiology of *Botrytis cinerea*, *Polish Journal of Microbiology* 61(2):119–128.
- Liu, Y, Chen, Z, TBNg, Zhang, J, Zhou, M, Song, F, Lu, F & Liu, Y 2006, Bacisubin, an antifungal protein with ribonuclease and hemagglutinating activities from *Bacillus subtilis* strain B-916, *Science Direct*:553–559.
- Makovitzki, A, Viterbo, A, Brotman, Y, Chet, I & Shai, Y 2007, Inhibition of fungal and bacterial plant pathogens *in vitro* and in planta with ultra shot cationic lipopeptides, *Appl. Environ. Microbiol* 73(20):6626–6636.
- Montealegre, JR, Reyes, R, Perez, LM, Herrera, R, Silva, P & Besoain, X 2003, Selection of bio-antagonistic bacteria to be used in biological control of *Rhizoctonia solani* in tomato, *Electronic Journal of Biotechnology* 6(2):116–127.
- Muis, A & Quimio, AJ 2006, Biological control of banded leaf and sheath blight disease (*Rhizoctonia solani* Kuhn) in corn with formulated *Bacillus subtilis* BR23, *Indonesian Journal of Agricultural Science* 7(1):1–7.
- Neher, OT & Gallian, JJ 2011, *Rhizoctonia* on sugar beet: importance, identification, and control in the Northwest, diakses pada 4 Juli 2014. (<http://www.cals.uidaho.edu/edcomm/pdf/PNW/PNW629.pdf>).
- Nourozian, J, Etebarian, HR & Khodakaramian, G 2006, Biological control of *Fusarium graminearum* on wheat by antagonistic bacteria, *Songklanakarin J. Sci. Technol.* 28:29–38.

- Octriana, L 2011, Potensi agens hayati dalam menghambat pertumbuhan *Phytium* sp. secara *in vitro*, *Buletin Plasma Nutfah* 17(2):138–142.
- Ongena, M, Duby, F, Jourdan, E, Beaudry, T, Jadin, V, Dommès, J & Thonart, P 2005, *Bacillus subtilis* M4 decreases plant susceptibility towards fungal pathogens by increasing host resistance associated with differential gene expression [abstrak], *Applied Microbiology and Biotechnology* 67(5):692–698.
- Papavizas, GC 1970, Colonization of *Rhizoctonia solani* in soil, in Parmeter, JR (ed.) *Rhizoctonia solani, Biology and Pathology*, University of California Press, California.
- Pleban, S, Chernin, L & Chet, I 1997, Chitinolytic activity of an endophytic strain of *Bacillus cereus*, *Letters in Applied Microbiology* 25: 284–288.
- Ristaino, JB, Perry, KB & Lumsden, RD 1991, Effect of solarization and *Gliocladium virens* on sclerotia of *Sclerotium rolfsii*, soil microbiota, and the incidence of southern blight of tomato, *Phytopathology* 81:1117–1124.
- Singh, V & Deverall, BJ 1984, *Bacillus subtilis* as a control agent against fungal pathogens of citrus fruit [abstrak], *Transactions of the British Mycological Society* 83(3):487–490.
- Seema, M & Devaki, NS 2012, *In vitro* evaluation of biological control agents against *Rhizoctonia solani*, *Journal of Agricultural Technology* 8(1):233–240.
- Vespermann, A, Marco, K & Piechulla, B 2007, Rhizobacterial volatiles affect the growth of fungi and *Arabidopsis thaliana*, *Appl. Environ. Microbiol* 73(17):5639–5641.
- Yedidia, I, Benhamou, N & Chet, I 1999, Induction of defense responses in cucumber plants (*Cucumis sativus* L.) by the biocontrol agent *Trichoderma harzianum*, *Applied and Environmental Microbiology* 65(3):1061–1070.
- Yulianti, T & Ibrahim, N 2000, Penyakit tanaman kapas dan pengendaliannya, dalam: Subiyakto & Nurindah (ed.), *Organisme pengganggu tanaman kapas dan musuh alami serangga hama kapas*, Balai Penelitian Tanaman Tembakau dan Serat, Malang.
- Zivkovic, S, Stojanovic, S, Ivanovic, Z, Gavrilovic, V, Popovic, T & Balaz, J 2010, Screening of antagonistic activity of microorganisms against *Colletotrichum acutatum* and *Colletotrichum gloeosporioides*, *Arch. Biol. Sci.* 62(3):611–623.